農業氣象、空氣污染與酸雨對農業生產影響及因應措施
研討會論文專輯　111-120, 1996.

篩選水稻耐二氧化硫癒合組織及其再生植株

宮濟平　楊居成
國立中興大學植物學系

內　容

摘要……112
英文摘要……112
前言……112
材料與方法……113
結果……115
討論……118
引用文獻……119

篩選水稻耐二氧化硫癒合組織及其再生植株

宮濟平　楊居成

國立中興大學植物學系

摘　要

利用植物組織培養技術及施與適當的逆境處理，常用作篩選耐逆境組織細胞的方法。本研究選用二氧化硫作爲耐逆境篩選的條件，以秈稻台中再來1號未成熟胚癒合組織作爲實驗材料。結果如下：(1) 二氧化硫薰蒸台中再來1號未成熟胚癒合組織，隨著二氧化硫濃度(0, 0.4, 0.8, 1.6及3.2 ppm)上升，表面褐化率明顯提升(由對照組的3%提升至3.2 ppm二氧化硫薰蒸組的66%)，而再生率則上下升降。(2) 經不同二氧化硫薰蒸台中再來1號未成熟胚癒合組織的再生植株，葉片超氧化物歧化酵素(SOD)及過氧化酵素(POD)的活性增加3.74及5.56 (units・mg^{-1} protein)，相當於31%及38%增加率。

關鍵詞：水稻、耐二氧化硫癒合組織、再生株、抗氧化酵素

Sulfur Dioxide Tolerant Rice Calluses: Selection and Plant Regeneration

Jih-Pyng Gong and Jiu-Sherng Yang (Department of Botany, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC)

ABSTRACT: Under appropriate stress treatments, the methodology of plant tissue culture could be used in selecting stress-tolerant line or variety. In this report, we used sulfur dioxide stress and immature embryo-drived callus of rice strain, cultivar indica Taichung Native 1, that has good regeneration ability to select stress-resistant clone. The results were stated briefly: (1) The brown ratio of TN1 calli increased from 3% for control ones to 66% for 3.2 ppm SO_2-fumed ones. However, the regeneration ratio of plantlet from the SO_2-fumed calli fluctuated. (2) The specific activity of superoxide dismutase (units・mg^{-1} protein) from the regenerated TN1 leaves increased 3.74 (31%) for 1.6 ppm SO_2- fumed calli. The peroxidase activity increased 5.56 units・mg^{-1} protein (38%) for 1.6 ppm SO_2 case.

Key words: Rice, SO_2-Tolerant Callus, Plant Regeneration, Antioxidant Enzymes

前　言

通常利用植物組織培養技術，以誘導植物突變種的產生，大量的應用於抗逆境新品系的篩選，如利用高鹽、低溫、乾旱、淹

水及空氣污染等不良生長條件，都可作爲組織細胞培養的選種壓力，而篩選耐鹽、或耐其它不良環境的新品種(Yang *et al.*, 1982; 何，1988; 胡，1990)。

因爲台灣近年來高度工業化，各種污染隨之而來，其中以空氣污染的影響範圍最大。一般空氣污染物可以分成兩大類：第一類是固體浮塵，如塵埃及金屬粒子、第二類是氣體分子，如二氧化硫、臭氧、氮氧化物、氟化物、氯化物等。在這些空氣污染物中，二氧化硫爲主要的污染物之一。因爲水稻是台灣栽培最廣的作物，因此在各種空氣污染所引起的公害事件中，水稻的受害面積最大，損失也最爲嚴重(工，1984)。所以，如何篩選出耐二氧化硫的水稻品系，對台灣而言十分重要。本論文敘述利用該技術，應用於水稻癒合組織耐二氧化硫的篩選，以提高水稻耐二氧化硫的能力。

薰蒸植物二氧化硫，可促成植物體內各種自由基($O_2^{\cdot -}$、$HSO_3^{\cdot}$、$OH^{\cdot}$)及活性氧($^1O_2$、H_2O_2)大量增加(Shimazaki *et al.*, 1980; Tanaka et al., 1980; Tanaka *et al.*, 1982)。這些具有高度活性的分子，極易與植物體內大分子化合物起作用，造成變性而失去作用。Tanaka 等人(1982)指出二氧化硫會使Calvin Cycle中含硫氫鍵(-SH)酵素，如 glyceraldehyde-3- phosphate dehydrogenase、frucose-1,6-bisphosphatase 活性下降，而使得光合作用速率減少。自由基的產生亦促成生物膜上的不飽和脂肪酸發生脂質過氧化現象，而導致生物膜破裂變性(余，1982; Elatner, 1982; Peiser *et al.*, 1982)。

Furusawa 等人(1984)篩選耐高劑量paraquat煙草癒合組織細胞，其超氧化物歧化酵素(Superoxide dismutase, SOD)活性(20～222 units・mg^{-1} protein)比一般植株葉片(1.4 units・mg^{-1} protein)提高14~159倍。Tanaka等人(1988)把這些癒合組織的再生植株與未經paraquat篩選的再生植株，薰蒸2 ppm二氧化硫22小時，結果：未經篩選過的再生植株，經二氧化硫薰蒸後，其葉片明顯出現褐化壞死的病斑，而經篩選過的再生植株則無此現象。檢測其中超氧化物歧化酵素活性(2.34～5.42 units・mg^{-1} protein)，雖然不比癒合組織中高，但仍較正常對照組(0.88～2.77 units・mg^{-1} protein)高出2～3倍，然酵素活性僅提高1.46～2.65 units・mg^{-1} protein。Tanaka等人(1980)發現白楊(poplar)新葉對二氧化硫抗性較老葉高，主要是因爲新葉中超氧化物歧化酵素的活性比老葉高。Peister等人(1982)發現菠菜的葉綠體可有效利用超氧化物歧化酵素抑制亞硫酸根離子所造成的脂質過氧化現象，而亞硫酸根離子則是二氧化硫溶於水中後所存在的主要型式。

Khan等人(1982)發現隨著二氧化硫的處理濃度與時間的增加，過氧化酵素活性亦會隨著增加。但Tanaka等人(1980)以白楊爲材料，發現在二氧化硫處理時過氧化酵素的活性變化並不明顯。Tanaka(1988)經由paraquat所篩選的煙草組織細胞再生植株，對二氧化硫具有抗性，過氧化酵素亦無明顯的變化。

材料與方法

(一) 供試材料

台中在來1號(TN1)水稻種子(由台灣省農業試驗所提供)置於培養皿中，加入70%酒精做稻種消毒，以100 rpm振盪3分鐘，以無菌水徹底洗淨藥液，放入30℃之定溫箱中催芽，每日水洗一次，待發芽後撒播於含有砂土的育苗盆中，約30天後移到定植盆中。盆中土壤預先混合適量之有機肥料(有機肥料/土壤：1/3～1/4)當作基肥，移植10天後施用氮肥(尿素)一次，每盆施用2克，以後每隔10～15天施用氮肥一次，每盆2克。在移植後一週施用適量好年冬(3%加保扶粒劑)以防治蟲害，以後每隔10天施用一次。生長至開花10天後，作爲獲取未成熟胚之試驗材料。

(二) 試驗方法

1. 培養基配方

(1) REC_1：係誘導未成熟胚形成癒合組織及其生長之培養基，成份爲N6(Chu *et al.*, 1975) 培養基的無機鹽類及MS培養基的有機成份，另外添加0.5 g/l casein hydrolysate、1 mg/l 2,4-D、3%蔗糖及0.9% agar，pH 5.7±0.1。

(2) K_1：誘導癒合組織分化成植株的培養基，其組成份爲N6培養基的無機鹽類及MS培養基的有機成份，再添加2 mg/l kinetin、3%蔗糖及0.9% agar，pH 5.7±0.1。

2. 標準氣體二氧化硫(10 ppm)

混合10 ppm SO_2與空氣，打入鋼瓶中儲存備用。購自三福化工股份有限公司(台中市工業區三路九號)，再自行經由SO_2 monitor(型式：8850，美國Monitor Lab. Co.)測定。

3. 未成熟胚癒合組織誘導、繼代培養與組織分化

係依據蔡(1988)及藍(1990)法進行。盆栽台中再來1號(TN1)於開花10天後，摘取其幼小穎花，除去內外穎片，移至無菌臺內以1%次氯酸鈉振盪消毒10分鐘，無菌水沖洗3次，再以鑷子取出未成熟胚，長度大約1～1.5 mm，胚軸面朝下，接種於固體REC_1培養基上，每支培養管(15×2.5 cm^2)含有10 ml的培養基，培養基表面接種3個未成熟胚。3星期後，待未成熟胚誘導而來的癒合組織生長至1.5～1.8 cm^2後，作爲薰氣二氧化硫試驗之材料。

4. 二氧化硫薰蒸癒合組織

移植癒合組織至125 ml三角瓶中(含有25 ml REC_1培養基)，經生長一星期後，把polypropylene質料封口更換爲血清塞，再以過濾消毒方式，分別注入6、12、24及48 ml之10 ppm SO_2氣體，使瓶內SO_2濃度分別爲0.4、0.8、1.6及3.2 ppm。於第一次注入SO_2處理後，每間隔一星期注入SO_2一次，共計注入三次後，繼代培養癒合組織於新鮮的REC1培養基中。全部過程重覆二次繼代培養(共計九次注入SO_2處理)，第九次SO_2處理後，移植癒合組織至K_1培養基中培養，使其分化形成植株。

5. 超氧化物歧化酵素(superoxide dismutase, SOD)及過氧化酵素(peroxidase, POD)活性之測定

(1) 樣品萃取液的製備

方法參照許(1988)法並稍作修改。取0.5克的葉片，剪碎置於冰浴上的研缽內，加入海砂以及液態氮磨碎後，再加入10 ml萃取緩衝溶液〔內含0.05 M Tris-HCl, pH =7.8, 1 mM EDTA-Na_2, 0.32%(v/v) Triton-X-100〕及0.4克的PVPP (polyvinylpolypyrrolidone)繼續研磨以10,000×g離心20分鐘後，取上清液，倒入透析袋，於25 mM磷酸緩衝溶液(pH 7.8)中，以每7小時置換一次磷酸緩衝溶液，透析20小時後，作爲樣品萃取液備用。

(2) 超氧化物歧化酵素(SOD)活性之測定

此法按照許(1988)法而定。於1 ml反應液中包含50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.8)、0.1 mM EDTA-Na_2、0.025 mM cytochromec、0.01 mM xanthine、100 ml樣品萃取液，上述溶液混合後，置於室溫30～40分鐘，以穩定550 nm吸光度。把xanthine oxidase加入反應液即開始反應，在同一波長(550 nm)視單位時間內吸光度之變化。一個單位(unit)之SOD活性被定義爲與未加樣品萃取液時比較，可抑制50% cytochrome c還原之速率。

(3) 過氧化酵素(POD)活性之測定

此法按照許(1988)法而定。於1 ml反應液中包含100 mM potassium phosphate buffer (pH 6.1)、0.1 mM EDTA-Na_2、1 mM guaiacol、0.005% (v/v) H_2O_2及10 ml樣品萃取液。樣品萃取液加入後，以分光光度計，在波長470 nm視單位時間內吸光度之變化。以一分鐘加一個吸光度定義爲一單位過氧化酵素的活性。

6. 資料分析

(1) 癒合組織表面褐化率及再生率均以百分比(%)表示，每個處理組均超過30個癒合組織，以卡方測驗(chisquare test)加以分析，比較其差異性。

(2) 癒合組織表面褐化率(%)

$$= \frac{\text{No. of Brown Calli (>50\%)}}{\text{No. of } SO_2 - \text{Fumed Calli}}$$

即表面積褐化超過50%的癒合組織個數，除以SO_2薰蒸過的癒合組織個數。

(3) 每次繼代培養，皆調查癒合組織褐化率(%)，若所得之值超過50%時，則移植此組癒合組織至K_1再生培養基培養再生植株。

結　果

(一) 二氧化硫薰蒸水稻癒合組織

分別以0、0.4、0.8、1.6及3.2 ppm之二氧化硫，薰蒸台中再來1號幼胚癒合組織，發現二氧化硫可促進癒合組織表面褐化率(表1及圖1)及影響再生率(表2～4)。

(1) 二氧化硫促進癒合組織表面褐化率

分別以不同濃度二氧化硫薰蒸台中在來1號癒合組織，隨著二氧化硫薰蒸濃度的增加，癒合組織表面褐化率亦增加(表1及圖1)。在未經二氧化硫薰蒸，癒合組織褐化面積超過50%只佔3.13%，而經0.4 ppm、0.8 ppm、1.6 ppm二氧化硫薰蒸，則其褐化率有明顯增加，可維持於18%左右，但當二氧化硫濃度增至3.2 ppm時，於較短薰蒸時間內褐化率則明顯增至65.63%。

(2) 二氧化硫對癒合組織再生植株的影響

以二氧化硫薰蒸台中在來1號癒合組織9次後，移至K1再生培養基，生長4星期後計算其再生率(表2～4)：培養管口蓋由polypropylene薄膜換爲血清塞會降低再生率(6.25比25.00)。於0.4 ppm二氧化硫處理後，癒合組織再生率增加至21.88% (7/32)，而當二氧化硫濃度增至1.6 ppm時，再生率降至等於對照組。又經由3次3.2 ppm二氧化硫處理後，其再生率降至3.13% (1/32)。

(二) 再生植株葉片中超氧化物歧化酵素(SOD)及過氧化酵素(POD)

台中在來1號(TN1)癒合組織經3次繼代培養、9次二氧化硫薰蒸處理後，於K1培養基再生所得的幼苗(圖2)分別測其葉片中超氧化物歧化酵素(SOD)、過氧化酵素(POD)活性及可溶性蛋白質含量(表5)。相對於對照組SOD而言，0.8 ppm及1.6 ppm薰蒸組中的SOD酵素活性(units・mg^{-1} protein)增加3.15及3.74，相當於約26%及31%增加率，然

表1. 不同農度二氧化硫熏蒸台中在來一號癒合組織，表面褐化率的影響

(SO_2) ppm	褐化率(%)	0.0 ppm 相對於各濃度處理組 d.f.	x^2
0.0	3.13(1/32)	1	
0.4	18.75(6/32)	1	4.0100 *
0.8	21.88(7/32)	1	5.1429 *
1.6	15.63(5/32)	1	2.9425
3.2	65.63(21/32)	1	27.7056 ***

*. 代表0.0%對照組作卡方測驗，達 5 %的差異顯著
**. 代表0.0%對照組作卡方測驗，達 1 %的差異顯著
***. 代表0.0%對照組作卡方測驗，達0.1%的差異顯著

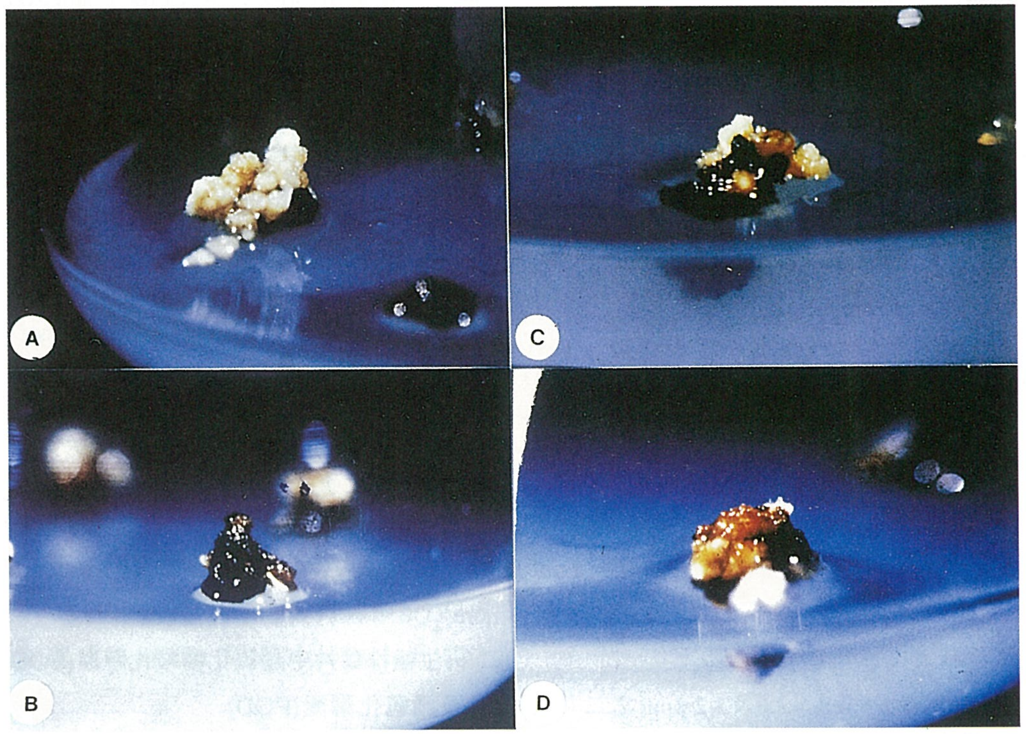

圖1. 在不同濃度二氧化硫熏蒸臺中在來一號癒合組織，表面褐化的程度。
A. 0.0 ppm 二氧化硫處理下，表面褐化低於20％
B. 0.8 ppm 二氧化硫處理下，表面褐化約100％
C. 1.6 ppm 二氧化硫處理下，表面褐化約45％
D. 3.2 ppm 二氧化硫處理下，表面褐化約80％

表2. 經不同濃度二氧化硫臺中在來一號未成熟胚癒合組織後的再生率

SO_2 conc. -ppm-	No.of plant regenerated	% of plant regenerated
0[a]	8	25. 00
0	2	6. 25
0. 4	7	21. 88
0. 8	4	12. 50
1. 6	2	6. 25
3. 2[b]	1	3. 13

每組處理癒合組織數爲32個；經由三次繼代培養，每代繼代培養處理二氧化硫三次。
[a]：以polypropylene 封口的生長環境之再生率
[b]：3.2 ppm 處理組爲第一代的再生率。

表3. 利用卡方測驗分析不同濃度二氧化硫熏蒸臺中在來一號未成熟胚癒合組織，對其再生率的影響

0[a] ppm 相對於各濃度處理組	d.f.	x^2
0	1	4. 2667*
0. 4	1	0. 0871
0. 8	1	1. 6410
1. 6	1	4. 2667
3. 2	1	6. 3354

*：代表與0.0％對照組作卡方測驗，達5％的差異顯著
a：以 polypropylene 封口的生長環境之再生率

表 4. 利用卡方測驗分析不同濃度二氧化硫熏蒸臺中在來一號未成熟胚癒合組織，對其再生率的影響

0 ppm 相對於各濃度處理組	d.f.	x^2
0. 0[a]	1	4. 2667
0. 4	1	3. 2323
0. 8	1	0. 7356
1. 6	1	0. 0000
3. 2	1	0. 3497

a：以polypropylene 封口的生長環境之再生率
*：達5％的差異顯著

表 5. 台中在來一號癒合組織經過三次繼代培養，九次二氧化硫熏蒸後，再生植株葉片超氧化物岐化酵素(SDD)及過氧化酵素(PDD)的活性與葉片蛋白質的含量

	SO_2 concentration (ppm)			
	0	0. 4	0. 8	1. 6
Superoxide dismutase				
(unit · mg^{-1} protein)	12. 00	6. 50	15. 15	15. 74
	(100)	(54)	(126)	(131)
(unit · g^{-1}fresh wt)	174. 63	137. 02	330. 20	163. 86
	(100)	(77)	(189)	(94)
Peroxidase				
(unit · mg^{-1} protein)	14. 59	12. 07	12. 64	20. 15
	(100)	(83)	(87)	(138)
(unit · g^{-1} fresh wt)	218. 33	253. 66	275. 71	210. 00
	(100)	(116)	(126)	(98)
Protein				
(mg protein · g^{-1} fresh wt)	14. 98	21. 06	21. 08	10. 42
	(100)	(140)	(141)	(70)

台灣省農業試驗所藏書

圖 2. 經1.6 ppm 二氧化硫熏蒸台中在來一號癒合組織後，由K_1培養基再生植株

而在0.4 ppm 薰蒸組卻下降5.50，相當於44%，若以SOD的單位鮮重活性而言，則只有0.8 ppm薰蒸組有明顯上升155.57 (89%)，其餘均下降。處理組POD的活性在相對於對照組時，只有在1.6 ppm二氧化硫薰蒸組POD增加5.56 units・mg^{-1} protein (38%)，其餘二處理組則下降，若以單位鮮重而言，則POD活性(units・g^{-1} fresh wt)則在0.4 ppm及0.8 ppm薰蒸組增加35.33 (16%)及57.38 (26%)，但在1.6 ppm薰蒸組則回復與對照組類似。可溶性蛋白質含量在0.4 ppm及0.8 ppm薰蒸組上升40%及41%，但是當二氧化硫濃度提高至1.6 ppm時，蛋白質含量則下降約30%。

討　論

利用植物組織培養篩選耐二氧化硫品系，只有Tanaka *et al.* (1988)在篩選耐高劑量paraquat煙草癒合組織之再生植株時，發現這些耐paraquat殺草劑的煙草，也具耐二氧化硫的特性。經測其葉片中抗氧化酵素，發現只有超氧化物歧化酵素(SOD)有明顯上升，因而推測SOD是植物中抗二氧化硫極為重要的酵素。經二氧化硫篩選過程，篩選後再生之台中在來1號植株葉片中SOD活性，發現在0.8 ppm二氧化硫處理組其SOD不論在單位鮮重活性或是單位蛋白活性均有上升之現象，尤其在單位鮮重活性上升非常明顯(表5)。然而1.6 ppm二氧化硫處理組SOD的單位蛋白質活性雖有上升之現象，但由於葉片中的蛋白質含量減少，導致其單位鮮重活性不升反降。雖然並無資料指出經二氧化硫處理的癒合組織所再生之植株

葉片蛋白質含量會下降，但Khan及Malhotra (1983)證明二氧化硫會導致閉果松針葉中蛋白質含量下降。這應可解釋1.6 ppm二氧化硫處理組因受高濃度二氧化硫薰蒸，而抑制癒合組織中蛋白質的合成，進而影響再生植株中蛋白質的合成，致使蛋白質含量下降。但在0.4 ppm及0.8 ppm二氧化硫薰蒸下，再生植株葉片中蛋白質含量則明顯上升，其原因並不清楚。二氧化硫進入植物體，先與水生成HSO_3^-後，再生大量的自由基(free radical)如：$O_2^{\cdot -}$、OH・及活性氧(active oxygen)如：$^1O_2$、H_2O_2(余，1982; Asada, 1980; Shimazaki et al., 1980; Tanaka *et al.*, 1980; Tanaka et al., 1982; Yang, 1970)。而這些生成物會對植物造成極大的傷害，如與膜內未飽合脂肪酸起作用(Shimazaki *et al.*, 1980; Lstner *et al.*, 1986)，造成脂質過氧化(lipid peroxidation)現象，使生物膜破壞，造成植物細胞死亡。

而由表1所顯示褐化率亦可得到二氧化硫對癒合組織表面傷害的證明。褐化率的提升極有可能是由於二氧化硫濃度提升，導致自由基及活性氧的含量增加，使得膜的破壞加劇所造成。而3.2 ppm二氧化硫處理組所造成之褐化率，與正常對照組之差異極為顯著。而二氧化硫對台中在來1號癒合組織再生率的影響(表2～4)，亦可看出1.6 ppm以上高濃度的二氧化硫，對其再生率有顯著影響，由於未有相關報告，因此無法瞭解是何原因造成此一現象，但應是二氧化硫的毒害使然。至於加封血清塞及加封polypropylene膜之對照組之間差異亦顯著，可能是由於加封血清塞後，降低空氣的交換率所致。經以二氧化硫處理台中在來1號未成熟胚癒合組織的方法與過程，在加以癒合組織表面的褐化率及處理過後再生植株之再生率為指標，可篩選到耐二氧化硫組織細胞。又比較表5所示SOD活性數值(units・mg^{-1} protein)與Tanaka等人(1988)於煙草癒合組織試驗結果：(a)本項者為31%活性增加率，低於Tanaka氏為2～3倍很多。(b)本項者為3.74 units・mg^{-1} protein活性增加量，大於Tanaka氏為1.46～2.65 units・mg^{-1} protein間二倍。葉片POD活性增加率而言(表5)，較少證明其對二氧化硫的耐性有關。因此，利用二氧化硫直接處癒合組織的方法有效與否，還有待直接測試再生植株薰蒸二氧化硫而定。

引用文獻

余叔文 1982 二氧化硫對植物的傷害和植物對二氧化硫的抗性。植物生理學報(中國) 6:345-352。

何偉頁 1988 植物組織培養在誘變育種上的應用。國科會生命科學研究推動中心專刊第十六集。pp.115-120。

胡含、陳英 1990 植物體細胞遺傳與作物改良。pp.271-285. 北京大學出版社，淑馨出版社，台北。

許博行 1988 硫化物污染物對木本植物生化生理反應之影響。國立中興大學植物學研究所博士論文，台中市。

蔡新聲 1988 植物組織培養在農業上之應用。國科會生命科學研究推動中心專刊第十六集。pp.99-114。

藍舒凡 1990 水稻未成熟胚培養來源癒合組織長期培養分化能力之探討。國立中興大學農藝研究所碩士論文，台中市。

Asada, K. 1980. Formation and scavenging of superoxide in chloroplasts, with relation to injury by sulfur dioxide. Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud. No. 11:165-179.

Chu, C. C., C. C. Wang, C. S. Sun, H. Chen, K. C. Y. Chu and F. Y. Bi. 1975. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments of nitrogen source. Scientia Sinica 18: 659-668.

Elstner, E. E. 1982. Oxygen activation and oxygen toxicity. Ann. Rev. Plant Physiol. 33: 73-96.

Elstner, E. F. 1986. Metabolism of actived

oxygen species. In: The Biochemistry of Plants (P. K. Stumpf and E. E. Conn, eds.) pp.253-313, London.

Frursawa, I., K. Tanaka, P. Thanutong, A. Mizuguchi, M. Yazaki and K. Asada. 1984. Paraquat resistant tobacco calluses with enhanced superoxide dismutase activity. Plant Cell Physiol. 25:1247-1254.

Khan, A. A. and S. S. Malhotra. 1982. Peroxidase activity as an indicator of sulfur dioxide injury in jack pine and white birch. Biochem. Physiol. Pflanzen. 177: 643-650.

Khan, A. A. and S. S. Malhotra. 1983. Protein biosynthesis in jack pine and its inhibition by sulfur dioxide. Phytochem. 22: 1325-1328.

Peiser, G. D., M. C. C. Lizada and S. F. Yang. 1982. Sulfite-induced lipid peroxidation in chloroplasts as determined by ethane production. Plant Physiol. 70:994-998.

Shimazaki, K., T. Sakaki, N. Kondo and K. Sugahara. 1980. Active oxygen participation in chlorophyll destruction and lipid peroxidation in SO_2-fumigated leaves of spinach. Plant Cell Physiol. 21: 1193-1204.

Tanaka, K., I. Furusawa, N. Kondo and K. Tanaka. 1988. SO_2 tolerance of tobacco plants regenerated from paraquat-tolerant callus. Plant Cell Physiol. 29:743-746.

Tanaka, K., T. Otsubo and N. Kondo. 1982. Participation of hydrogen peroxide in the inactivation of Calvin-cycle SH enzyme in SO_2-fumigated spinach leaves. Plant Cell Physiol. 23:1009-1018.

Tanaka, K. and K. Sugahara. 1980. Role of superoxide dismutase in defense against SO2 toxicity and increase in superoxide dismutase activity with SO_2 fumigation. Plant Cell Physiol. 21:601-611.

Yang, S. F. 1970. Sulfoxide formation from methionine or its sulfide analogs during aerobic oxidation of sulfite. Biochem. 9: 5008-5014.

Yano, S., M. Ogawa and Y. Yamada. 1982. Plant formation from selected rice cells resistant to salts. In: Proc. 5th Intl. Cong. Plant tissue and cell culture. pp.495-496.